

• 专栏论著 •

颞颌关节紊乱综合征 各期患者滑液中细胞因子的研究

第 2 报 IL-6 水平及其意义*

胡 波 王大章 于 端 彭贵平 章崇杰

摘要 检测了 36 例临床诊断为颞下颌关节紊乱综合征(TMJDS)各期(功能紊乱期、结构紊乱期、器质性改变期)患者关节滑液中白介素-6(IL-6)的活性。结果表明:IL-6 活性与 TMJDS 病变程度有关,随病情加重,IL-6 活性增高。IL-6 水平在一定程度上反映了关节内自身免疫反应的强弱。TMJDS 患者关节内存在的骨关节炎(OA)病变使软骨中的封闭抗原暴露,诱发自身免疫反应并刺激产生了 IL-6,升高的 IL-6 活性反过来通过增强自身免疫反应来加重 TMJDS 病变,如此形成恶性循环。对 IL-6 的研究,有助于解决 TMJDS 病程迁延、久治不愈的问题,从而使临床治疗更为有效。

关键词 IL-6 自身免疫反应 颞颌关节紊乱综合征 骨关节炎

细胞因子(cytokines)是一类由细胞产生并分泌到细胞外的糖蛋白分子,它们具有多种生物学功能。目前,细胞因子在关节疾病发生发展中的作用日益受到重视。在类风湿性关节炎的研究中,已确认细胞因子是关节破坏及炎症的重要介质。随着骨关节炎基础研究的深入,研究者们发现细胞因子在骨关节炎(或称退行性关节炎)软骨破坏及滑膜慢性炎症中也发挥了重要作用^[1]。研究认为白介素-6(IL-6)是一种与产生自身抗体有关的细胞因子,而自身免疫反应已在颞颌关节紊乱综合征(TMJDS)结构期及器质期患者关节内发现^[2,3],因此对 IL-6 的研究有助于揭示 TMJDS 关节病变中自身免疫反应的发生、发展过程及其调控。本实验采用临床诊断为 TMJDS 各期患者的关节滑液,首次进行了 IL-6 活性的测定,并进行统计学处理,旨在了解 IL-6 水平与 TMJDS 病变程度的关系,进而探讨 IL-6 与 TMJ 骨关节炎的关系。

1 材料和方法

1.1 临床病例及分组

1.1.1 纳入标准 所有患者疾病的临床特点及 X 线检查表现均须符合 TMJDS 的临床分类和诊断标准^[4]。

1.1.2 排除标准 有如下情况者不纳入本实验:①

TMJ 区有化脓性感染灶存在者;②疑为类风湿关节炎者;③疑为原发性骨关节炎者;④外伤性 TMJ 关节病患者;⑤患全身性急性疾病及慢性消耗性疾病者;⑥曾接受过任何形式的关节腔内穿刺、注药、手术者;⑦近一月内接受过抗炎及抗风湿治疗者。

1.1.3 实验分组 本实验共 36 例 TMJDS 患者,按病期分为 3 组,即关节功能紊乱组(A 组),关节结构紊乱组(B 组)和关节器质性改变组(C 组)。各分组见表 1。

表 1 实验分组及各组情况

分组	例数	关节侧(侧)	男	女	平均年龄(岁)
A 组	12	12	7	5	38
B 组	12	12	3	9	41
C 组	12	12	2	10	39

1.2 TMJ 滑液的抽取

方法同第 1 报^[5]。

1.3 IL-6 的测定

1.3.1 IL-6 活性检测

①取对数生长期 IL-6 依赖株 KD83 细胞,用 RPMI 1640 液洗 3 遍,37℃ 孵育 30 min,用含 10%BS 的 1640 配成 2×10^5 /ml。待测样品取原液、1/2 及 1/4

* 本研究受国家自然科学基金资助(编号 39170781)
作者单位:610041 华西医科大学口腔医学院(胡 波 王大章 于 端 彭贵平),华西医科大学基础医学院(章崇杰)

共 3 个稀释度。

②标准 IL-6(BM, 德国), 取原液(100IU/ml), 1/2, 1/4, 1/8, 1/16 及 0 共 6 个稀释度, 取 96 孔板, 加入 KD 83 细胞悬液 100 μl/孔和待测样品 100 μl/孔或标准品 100 μl/孔。阴性对照以 RPMI 1640 100 μl/孔代替。

③培养板置于 37℃, 5%CO₂ 孵箱中孵育 72 h, 培养结束前 12 h 加入³H-标记胸苷(³H-TdR), 3.7×10⁴ Bq/孔, 制膜、液闪仪测 cpm 值, 按概率单位法计算待测样品 IL-6 含量(IU/ml)。

1.3.2 概率单位法

以待测样品和标准品的稀释度为横轴, 以测得 cpm 值为纵轴作图, 求出标准品的最高掺入值的 50% 的稀释度, 找出待测样品得到 50% 标准品最高³H-TdR 掺入值(cpm)的稀释度。

$$\text{待测样品含量} = \frac{50\% \text{最大反应时样品稀释度的倒数}}{50\% \text{最大反应时标准品稀释度的倒数}} \times \text{标准品的 IU/ml}$$

1.3.3 IL-6 测定值的统计学处理

全部数据由华西医科大学临床流行病学教研室进行统计学处理, 所用软件为 SAS 系统, 行方差分析。

2 结 果

2.1 IL-6 检测结果

各组患者 TMJ 滑液中 IL-6 的测定值如表 2。

表 2 TMJDS 患者 TMJ 滑液中 IL-6 测定值(IU/ml)

编号	A 组	B 组	C 组
1	36	41	62
2	37	53	48
3	31	50	67
4	43	52	76
5	42	50	51
6	45	65	73
7	38	41	61
8	31	60	76
9	49	48	74
10	38	59	65
11	46	40	72
12	45	53	63
$\bar{x} \pm s$	40 ± 5.8	51 ± 7.9	65 ± 9.3

结果表明: 三个组中 IL-6 水平的差异在统计学上具有显著性($F = 32.54, P < 0.0001$)。应用 Tukey's Studentized Range(HSD) Test 分别行三个组内的两两

比较, 结果示: A, B, C 三个组内任意两组 IL-6 水平的差异在统计学上具有显著性($P < 0.05$)。

3 讨 论

3.1 IL-6 的性质与 TMJDS 中自身免疫现象

IL-6 是一种 26 kD 的细胞因子, 许多细胞如 T 细胞, 单核细胞及成纤维细胞可以合成并分泌 IL-6。IL-6 具有比 IL-1 和肿瘤坏死因子 α (TNFα) 更强的刺激 B 淋巴细胞产生抗体的能力, 它可促进 B 淋巴细胞增殖, 并有分化为 Ig 分泌细胞的能力, 这可能与自身抗体的产生有关, 因此它在免疫调节中发挥主要作用^[1,6], IL-6 的增加将会促进自身免疫反应的发生和发展, 使关节结构的破坏加重。谷志远等^[2,3]报道, TMJDS 结构紊乱期及器质改变期患者关节标本内均有 IgA, IgG, IgM 和补体 C3 沉积, 说明关节软骨内有免疫复合物存在, 关节内发生了自身免疫反应。本实验结果显示, TMJDS 各期患者滑液中 IL-6 的水平不同, 结构紊乱期及器质改变期较高, 而其中又以器质改变期患者 TMJ 滑液中 IL-6 水平最高, 说明随着病程的发展, 关节内的自身免疫反应可能增强。在这种自身免疫反应的发生过程中, 抗原递呈细胞 (Antigen-presenting cells, APCs) 将产生白介素-1 (IL-1), IL-1 又可刺激软骨细胞、单核细胞、T 细胞及成纤维细胞分泌 IL-6^[7], 导致局部自身抗体分泌的增加。由此可见, IL-6 水平在一定程度上反映了关节内自身免疫反应的强弱。

3.2 IL-6 与 TMJ 骨关节病

骨关节病, 也称为骨关节炎或退行性关节病, 它是可动滑膜关节的常见疾病。其特点是关节软骨的破坏及耗损, 同时伴其下骨组织的改建过程。关节软骨由蛋白多糖 (proteoglycan, PG)、胶原及软骨细胞构成, 这三者均具抗原性, 但由于在正常情况下, 关节软骨表面有胶原纤维网状结构及最表层凝胶状物质的屏障作用, 使它们没有机会接触免疫细胞, 无法引起自身免疫反应, 但一旦关节正常组织受损, 被“隔绝”的抗原暴露, 接触了免疫细胞, 就可诱发自

身免疫反应,加重软骨破坏,最终形成恶性循环。在骨关节病病理改变中,关节软骨的破坏是该病的主要改变。关节软骨完整性的破坏,就为上述自身免疫应答过程提供了条件。因此,自身免疫反应在骨关节病的发展中至少起了推波助澜的作用。对人骨关节病软骨的组化研究已证实了 IL-6 的存在^[9],骨关节病病变滑膜细胞也能产生大量的 IL-6^[10]。许多研究都表明, TMJDS 结构紊乱期及器质改变期的同一病理实质为退行性关节病,即骨关节病。本实验中发现的 TMJDS 患者从功能紊乱期、结构紊乱期到器质改变期滑液中 IL-6 水平不断升高的现象,可能与 TMJ 骨关节病病变不断加重,自身免疫反应加强有关。说明在 TMJ 骨关节病中亦存在自身免疫现象,IL-6 在 TMJ 骨关节病的自身免疫反应中具有重要的作用,其水平的高低可能与病变的严重程度有密切关系。

对细胞因子,特别是对 IL-6 的研究,将有助于揭示 TMJ 骨关节病中自身免疫反应的具体过程,有助于阐明 TMJ 骨关节病病程持续、迁延不愈的问题,有助于使临床治疗更为有效。

4 参考文献

- 1 Arend WP, Dayer JM. Cytokines and cytokine inhibitor or antagonist in rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum*, 1990, 33 : 305
- 2 谷志远,张震康. 颞下颌关节紊乱综合征的自身免疫反应研究. 中华医学会第三次全国口腔科学学术会议文摘汇编. 贵阳,1988 : 141
- 3 谷志远,张震康,孙开华,等. 颞下颌关节紊乱综合征器质性病变的免疫组化研究. *中华口腔医学杂志*, 1991;26 : 300
- 4 张震康,傅民魁. 颞下颌关节病. 北京:人民卫生出版社,1987 : 40~210
- 5 胡波,王大章,于端等. 颞颌关节紊乱综合征各期患者滑液中细胞因子的研究. 第 1 报 IL-1 水平及其意义. *华西口腔医学杂志*,1993;11 : 235
- 6 Kishimoto T. The biology of interleukin-6. *Blood*, 1989,74 : 1
- 7 Wong GG, Clark SC. Multiple actions of interleukin-6 within a cytokine network. *Immunol Today*, 1988;9 : 137
- 8 胡波,王大章. 退行性关节病发病机理与颞颌关节退行性变. *国外医学口腔医学分册*,1992;19 : 22
- 9 Guerne PA, Zuraw BL, Vaughan JH, et al. Interleukin-6 and joint tissues. *Ann NY Acad Sci*, 1989; 557 : 558
- 10 Pelletier JP, Roughley PJ, DiBattista JA, et al. Are cytokines involved in osteoarthritic pathophysiology? *Semin Arthritis Rheum*, 1991;20(suppl 2) : 12

(1994-04-04 收稿)

**A Study on Cytokines in Synovial Aspirates
of Various-stage TMJDS Patients
Section 2: IL-6 and Its Significance**

Hu Bo, Wang Dazhang, Yu Duan, et al

College of Stomatology, WCUMS

Zhang Chongjie

School of Basical Medical Sciences, WCUMS

Abstract

Samples of TMJ synovial fluid were obtained from 36 cases of various stages of TMJDS patients, and the levels of IL-6 in the synovial aspirates were determined and the statistical analysis were made. The results showed that the levels of IL-6 varied from stage to stage of the patients with TMJDS, and they appeared to be highly correlated with the severity of the TMJ osteoarthritic lesions and represented the severity of the autoimmunity in the diseased joint to some extent. The tissue damage in TMJ osteoarthritis that exposed the sequestered antigens in cartilage would provide an opportunity for the generation of autoimmune responses and stimulate the production and release of IL-6. The elevated level of IL-6 accelerated the damage of cartilage by enhancing the autoimmune response.